

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

APPLICANT: SOO-SUK LEE, ET AL.)
)
FOR: MICROARRAY SUBSTRATE COMPRISING)
PATTERNED PHOTORESIST FILM WITH SPOT)
REGIONS, MICROARRAY, AND METHOD OF)
DETECTING TARGET MATERIAL)

CLAIM FOR PRIORITY

Mail Stop Patent Application
Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

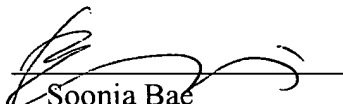
Dear Commissioner:

Enclosed herewith is a certified copy of Korean Patent Application No. 2003-0003669 filed on January 20, 2003. The enclosed Application is directed to the invention disclosed and claimed in the above-identified application.

Applicants hereby claim the benefit of the filing date of January 20, 2003, of the Korean Patent Application No. 2003-0003669, under provisions of 35 U.S.C. 119 and the International Convention for the protection of Industrial Property.

Respectfully submitted,

CANTOR COLBURN LLP

By: 
Soonja Bae
Reg. No. (See Attached)
Cantor Colburn LLP
55 Griffin Road South
Bloomfield, CT 06002
PTO Customer No. 23413
Telephone: (860) 286-2929
Fax: (860) 286-0115

Date: January 20, 2004



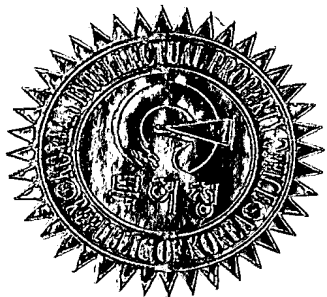
별첨 사본은 아래 출원의 원본과 동일함을 증명함.

This is to certify that the following application annexed hereto
is a true copy from the records of the Korean Intellectual
Property Office.

출원번호 : 10-2003-0003669
Application Number

출원년월일 : 2003년 01월 20일
Date of Application JAN 20, 2003

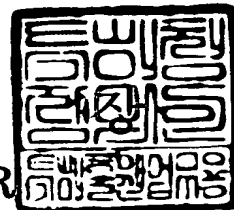
출원인 : 삼성전자주식회사
Applicant(s) SAMSUNG ELECTRONICS CO., LTD.



2003 년 02 월 07 일

특 허 청

COMMISSIONER



【서지사항】

【서류명】	특허출원서
【권리구분】	특허
【수신처】	특허청장
【참조번호】	0010
【제출일자】	2003.01.20
【국제특허분류】	G01N
【발명의 명칭】	고정화 영역을 갖는 포토레지스트 막을 포함하는 어레이 장치 및 이를 이용한 표적 물질 검출방법
【발명의 영문명칭】	An array device comprising a photoresist film having immobilization regions and a method using the same
【출원인】	
【명칭】	삼성전자 주식회사
【출원인코드】	1-1998-104271-3
【대리인】	
【성명】	이영필
【대리인코드】	9-1998-000334-6
【포괄위임등록번호】	2003-003435-0
【대리인】	
【성명】	이해영
【대리인코드】	9-1999-000227-4
【포괄위임등록번호】	2003-003436-7
【발명자】	
【성명의 국문표기】	이수석
【성명의 영문표기】	LEE, Soo Suk
【주민등록번호】	670810-1406317
【우편번호】	442-470
【주소】	경기도 수원시 팔달구 영통동 벽적골9단지 아파트 912-1504
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	김선희
【성명의 영문표기】	KIM, Sun Hee
【주민등록번호】	701110-2068931

【우편번호】	442-470
【주소】	경기도 수원시 팔달구 영통동 황골주공아파트 102동 304호
【국적】	KR
【발명자】	
【성명의 국문표기】	최영
【성명의 영문표기】	CHOI, Young
【주민등록번호】	740815-2328111
【우편번호】	449-904
【주소】	경기도 용인시 기흥읍 보라리 삼성아파트 3-602
【국적】	KR
【취지】	특허법 제42조의 규정에 의하여 위와 같이 출원합니다. 대리인 필 (인) 대리인 이영 이해영 (인)
【수수료】	
【기본출원료】	13 면 29,000 원
【가산출원료】	0 면 0 원
【우선권주장료】	0 건 0 원
【심사청구료】	0 항 0 원
【합계】	29,000 원
【첨부서류】	1. 요약서·명세서(도면)_1통

【요약서】**【요약】**

본 발명은 어레이 장치에 관한 것으로, 구체적으로는 하나 이상의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 기판을 포함하고, 상기 포토레지스트 막은 벗겨낼 수 있는 것인 어레이 장치를 제공한다.

【대표도】

도 3

【색인어】

포토레지스트 막, 어레이, 고정화 영역

【명세서】**【발명의 명칭】**

고정화 영역을 갖는 포토레지스트 막을 포함하는 어레이 장치 및 이를 이용한 표적 물질 검출방법(An array device comprising a photoresist film having immobilization regions and a method using the same)

【도면의 간단한 설명】

도1은 도1은 표적 물질의 비특이적 결합을 방지하기 위한 것으로, 소혈청알부민을 사용하는 과정의 일예를 모식적으로 나타낸 것이다.

도2는 본 발명의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 포함하는 어레이 장치를 제조하는 과정의 일예를 나타낸 것이다.

도3은 본 발명의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 포함하는 어레이 장치를 이용한 표적 물질 검출 결과를 나타내는 사진이다.

【발명의 상세한 설명】**【발명의 목적】****【발명이 속하는 기술분야 및 그 분야의 종래기술】**

<4> 본 발명은 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 어레이 장치 및 이를 이용한 표적 물질 측정방법에 관한 것이다.

<5> 비특이적 결합이란 표적물질이 원하지 않는 위치에 결합하는 것을 말한다. 바이오 칩을 이용한 표적 물질을 검출하는 과정에서 표적물질의 비특이적 결합은 감도를 떨어뜨리고, 검출의 오류를 가져올 수 있다.

<6> 종래 이러한 표적물질의 비특이적 결합을 방지하기 위하여, 바이오칩의 제작과정이나 검출과정에서 비특이적 결합을 방지하기 위한 블록킹 물질을 바이오 칩상에 도포한다. 상기 블록킹 물질로는 예를 들면, 소혈청알부민(BSA)이 사용된다. 상기 소혈청알부민은 반응하지 않고 활성화 상태로 존재하는 링커 물질의 반응성을 억제(quenching)하거나 고체 기판에 단일층(monolayer) 형태로 도포되어 비특이적 결합을 최소화하기 위하여 사용된다. 그러나, 이러한 물질을 사용하는 경우, 상기 물질을 도포하는 조건(예를 들면, 농도 및 시간)에 따라서, 예상하지 못한 비특이적 결합의 우려가 있을 뿐 아니라, 고정화된 분자, 즉 프로브의 모양이 일그러지는 현상(tailing 이라 함)이 일어날 수 있다. 또한, 상기 소혈청알부민과 같은 화합물은 열이나 화학물질에 의하여 손상될 수 있다는 문제점이 있다.

<7> 도1은 표적 물질의 비특이적 결합을 방지하기 위한 것으로, 소혈청알부민을 사용하는 과정의 일예를 모식적으로 나타낸 것이다. 먼저, 유리 기판(2) 상에 링커 화합물(10)을 도포한다. 상기 링커 화합물로는 알데히드, 에폭시, 아민 말단을 갖는 실록산이다. 상기 링커 화합물에 프로브(12)로서 제1 항체를 공유적으로 결합시킨다. 다음으로, 표적 물질의 비특이적 결합 및 프로브(12)와 공유결합하지 않은 링커 물질의 활성을 막기 위하여 블록킹 물질로서 소혈청알부민(14)을 도포한다. 다음으로, 표적 물질인 항원을 직접적으로 검출하는 데 사용하거나, 항원을 상기 제1 항체 결합시키고, 제2 항체를 검출하는 데 사용할 수 있다.

<8> 표적 물질의 비특이적 결합을 방지하기 위한 것으로, DNA 칩 제작 과정에서는 프로브 DNA를 고정화시키고, 고체 기판 표면에 음이온을 갖는 화학물질로 도포

하는 방법이 많이 사용된다. 이 방법 역시 도포 조건에 따라 비특이적 결합을 방지할 수 있는 정도가 달라지는 불균일성의 문제가 있다. 또한, 화학물질은 고정화된 단백질의 활성을 억제할 가능성이 있기 때문에, 단백질 칩에 대하여는 사용할 수 없는 경우가 많다.

<9> 또한, PEG(polyethyleneglycol)와 같은 고분자나 PEG를 포함하는 프로브를 사용하는 방법도 있다. 그러나, 이들 방법은 PEG나 이를 포함하는 바이오칩을 제작하는 과정이 복잡하고, 단가가 많이 들고, 비특이적 결합을 완전하게 방지할 수 없다는 어려움이 있다.

【발명이 이루고자 하는 기술적 과제】

<10> 따라서, 본 발명은 표적 물질의 비특이적 결합을 방지하기 위하여 블로킹 물질과 같은 화합물을 도포할 필요가 없는 어레이 장치를 제공하는 것이다.

<11> 또한, 본 발명의 목적은 표적 물질의 검출 과정에서 표적 물질의 비특이적 결합을 방지하기 위한 블로킹 물질을 도포하는 과정 없이도 비특이적 결합을 방지할 수 있는 표적 물질의 검출 방법을 제공하는 것이다.

【발명의 구성 및 작용】

<12> 본 발명은 하나 이상의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 기판을 포함하고, 상기 포토레지스트 막은 벗겨낼 수 있는 것인 어레이 장치를 제공한다.

<13> 또한, 본 발명은 상기 고정화 영역 내에 프로브를 공유적으로 부착시킬 수 있는 관능기를 갖는 복수의 화합물을 더 포함하는 어레이 장치를 제공한다. 상기 기판의 재질은 예를 들면, 유리, 실리콘, 폴리프로필렌 및 폴리에틸렌과 같은 물질이 사용될 수 있다.

상기 프로브는 검출하고자 하는 표적 물질과 특이적으로 결합하는 것으로서, 특별한 제한은 없으나 단백질, 핵산 및 다당류가 포함될 수 있다. 또한, 상기 관능기는 상기 프로브를 부착할 수 있도록 하는 것이면 어느 것이나 사용될 수 있다. 예를 들면, 알데히드, 에폭시 또는 아민기가 될 수 있으며, 상기 화합물은 말단에 알데히드, 에폭시 또는 아민기를 갖는 실록산이 될 수 있다. 그러나, 이들 화합물에 한정되는 것은 아니다.

<14> 또한, 본 발명은 상기 관능기에 공유적으로 결합된 프로브를 더 포함하는 어레이 장치를 제공한다.

<15> 상기 포토레지스트 막은 얇은 필름의 형태로 되어 있으며, 기판으로부터 손상되지 않고 벗겨될 수 있는 것이다. 따라서, 프로브와 액체 시료 중의 표적 물질 사이의 반응이 고정화 영역 상에서 이루어진 후, 비특이적 반응 부분을 줄이기 위하여 벗겨내어 제거할 수 있다.

<16> 본 발명에서 사용되는 포토레지스트 물질은 반도체 제조 공정에서 통상적으로 사용되는 것이 사용될 수 있다. 또한, 상기 포토레지스트 막을 제조하는 과정 및 고정화 영역을 제조하는 과정은 반도체 제조 공정에서 통상적으로 사용되는 과정에 의하여 제조될 수 있다. 그러나, 반드시 반도체 제조 공정에 한정되는 것은 아니다.

<17> 상기 기판 상의 포토레지스트 막에 고정화 영역을 패터닝하는 과정의 일예를 도2를 참조하여 보다 상세하게 설명하면, 다음과 같다.

<18> 먼저, 유리 기판(2) 상에 포토레지스트를 도포하여 포토레지스트 막(4)을 형성시킨다. 이렇게 형성된 포토레지스트 막에 포토리소그래피를 이용하여 패터닝하여 고정화 영역(6)을 형성시킨다. 상기 고정화 영역(6)과 고정화 영역(6)의 공간 영역을 경계 영역

(8)이라 한다. 이렇게 함으로써, 고정화 영역(6)과 경계 영역(8)을 갖는 어레이 장치를 제작할 수 있다. 여기에, 상기 고정화 영역(6)에 프로브를 결합시킬 수 있는 링커(10)를 결합시킬 수 있다. 예를 들면, 알데히드 기를 갖는 실록산이 결합되어질 수 있다. 또한, 상기 링커(10)에 프로브(12)를 고정화시킬 수 있다.

<19> 또한, 본 발명은 (a) 벗겨낼 수 있고, 하나 이상의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 기판을 제공하는 단계;

<20> (b) 상기 고정화 영역 내에 프로브를 공유적으로 부착시킬 수 있는 관능기를 갖는 화합물을 부착하는 단계;

<21> (c) 상기 관능기에 프로브를 공유적으로 결합시키는 단계;

<22> (d) 상기 프로브에 액체 시료를 노출시키는 단계;

<23> (e) 상기 액체 시료 중의 화합물과 포토레지스트 막의 경계 영역 사이의 비특이적인 반응을 제거하기 위하여 상기 포토레지스트 막을 벗겨내는 단계; 및

<24> (f) 상기 액체 시료 중의 표적 물질과 상기 프로브 사이의 반응을 검출하는 단계; 를 포함하는 액체 시료 중의 표적 물질을 검출하는 방법을 제공한다.

<25> 상기 프로브는 표적 물질이 특이적으로 결합하는 것으로서, 단백질, 핵산 또는 다당류가 될 수 있다. 구체적으로, 상기 프로브는 DNA, RNA, 항체, 항원, 리간드, 기질 또는 저해제가 될 수 있다. 상기 관능기를 갖는 화합물은 알데히드, 에폭시 또는 아민기를 말단에 갖는 실록산이 될 수 있다.

<26> 상기 포토레지스트 막은 얇은 필름의 형태로 되어 있으며, 기판으로부터 손상되지 않고 벗겨질 수 있는 것이다. 따라서, 프로브와 액체 시료 중의 표적 물질 사이의 반응

이 고정화 영역 상에서 이루어진 후, 비특이적 반응 부분을 줄이기 위하여 벗겨내어 제거할 수 있다.

<27> 이하 본 발명을 실시예를 통하여 보다 상세하게 설명하면 다음과 같다. 그러나, 이들 실시예는 본 발명을 예시적으로 설명하기 위한 것으로 본 발명의 범위가 이들 실시예가 여기에 한정되는 것은 아니다.

<28> 실시예

<29> 먼저, 유리 기판상에 필름 형태의 포토레지스트 BF410(Tokyo Oka, JAPAN)를 도포하여 포토레지스트 막을 형성시킨다. 이렇게 형성된 포토레지스트 막에 포토리소그래피를 이용하여 패터닝하여 고정화 영역을 형성시킨다. 이렇게 준비된 어레이 장치를 UV-Ozone 세척기(UV-Ozone cleaner)에서 1시간 동안 방치하여 고정화 영역을 세척하고, SiOH를 갖도록 활성화시킨다. 활성화 된 고정화 영역에 3-(글라이시독시프로필)트리메톡시실란의 톨루엔 용액 (3 %)을 채우고 상온에서 한시간 동안 방치시킨다.

<30> 상기 실란화 반응이 완결되면 어레이 장치를 톨루엔으로 세척하여 약 120도 오븐에서 1시간 동안 건조시킨다. 이어서 상온으로 냉각시키고, 톨루엔으로 다시 한번 세척하고 상온에서 건조시킨다.

<31> 다음으로 상기에서 얻은 어레이 장치의 고정화 영역에 Human IgG 인산 버퍼 수용액 (100 mg/ml, 각 10 mL)을 채우고 상온에서 1시간 반응시킨다. 이후 어레이 장치를 Tween 20 인산 버퍼 수용액 (1 %)으로 세척하고, Anti-human IgG-FITC conjugate 인산 버퍼 수용액 (100 mg/ml)을 각 고정화 영역에 점적하고 상온에서 30분간 반응 시킨다. 이후 어레이 장치를 Tween 20 인산 버퍼 수용액 (1 %), 증류수로 세척한다.

<32> 단백질간의 반응을 마친 어레이 장치의 포토레지스트를 조심스럽게 벗겨내고 스캐너를 통해서 반응을 확인한다. 반응의 결과는 도3a에 나타내었다. 도3b는 비교예로서, 비특이적 결합을 방지하기 위하여 소혈청알부민을 사용한 경우의 반응결과를 나타낸다. 도3a 및 도3b에서, 왼쪽의 반응결과는 오른쪽보다 해상도만을 높게 하여 스캐닝한 결과이다. 도3a 및 도3b에서 보듯이, 본 발명의 어레이 장치는 소혈청알부민에 의한 비특이적 결합의 방지 효과 만큼 혹은 그 이상을 보여줄 수 있음을 알 수 있었다.

【발명의 효과】

<33> 본 발명의 어레이 장치에 의하면, 실험 과정 중 소혈청알부민(BSA)과 같은 물질을 도포할 필요가 없이 비특이적 반응을 제거할 수 있는 어레이 장치를 제공할 수 있다.

<34> 또한, 본 발명의 측정 방법에 의하면, 비특이적 반응을 제거하기 위하여 소혈청알부민(BSA)와 같은 물질을 도포하는 과정을 거치지 않아 효율적으로 표적물질을 검출할 수 있다.

【특허청구범위】**【청구항 1】**

하나 이상의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 기판을 포함하고, 상기 포토레지스트 막은 벗겨낼 수 있는 것인 어레이 장치.

【청구항 2】

제1항에 있어서, 상기 고정화 영역 내에, 프로브를 공유적으로 부착시킬 수 있는 관능기를 갖는 화합물이 링커로서 결합되어 있는 어레이 장치.

【청구항 3】

제2항에 있어서, 상기 프로브는 단백질, 핵산 또는 다당류인 어레이 장치.

【청구항 4】

제2항에 있어서, 상기 관능기를 갖는 화합물은 알데히드, 에폭시 또는 아민기를 말단에 갖는 실록산인 어레이 장치.

【청구항 5】

제2항에 있어서, 상기 링커에 공유적으로 결합된 프로브를 더 포함하는 어레이 장치.

【청구항 6】

(a) 벗겨낼 수 있고, 하나 이상의 고정화 영역이 패터닝된 포토레지스트 막을 갖는 기판을 제공하는 단계;

(b) 상기 고정화 영역 내에 프로브를 공유적으로 부착시킬 수 있는 관능기를 갖는 화합물을 부착하는 단계;

- (c) 상기 관능기에 프로브를 공유적으로 결합시키는 단계;
- (d) 상기 프로브에 액체 시료를 노출시키는 단계;
- (e) 상기 액체 시료 중의 화합물과 포토레지스트 막의 경계 영역 사이의 비특이적인 반응을 제거하기 위하여 상기 포토레지스트 막을 벗겨내는 단계; 및
- (f) 상기 액체 시료 중의 표적 물질과 상기 프로브 사이의 반응을 검출하는 단계를 포함하는 액체 시료 중의 표적 물질을 검출하는 방법.

【청구항 7】

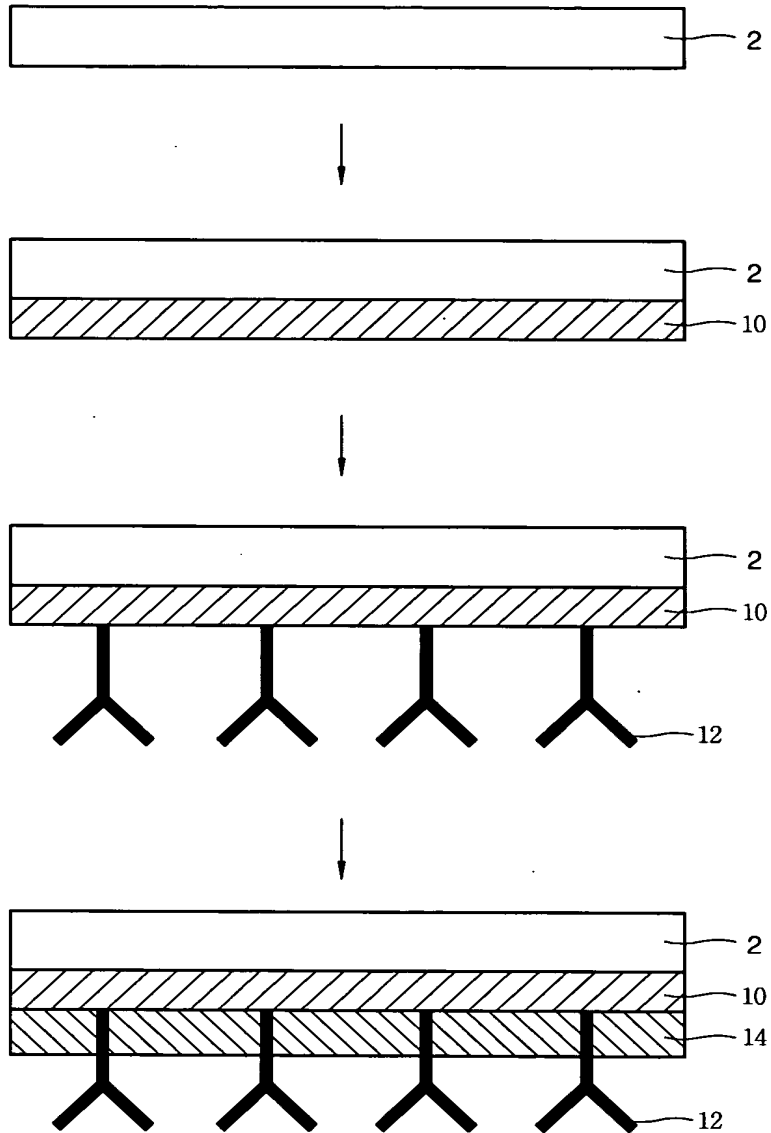
제6항에 있어서, 상기 프로브는 단백질, 핵산 또는 다당류인 방법.

【청구항 8】

제6항에 있어서, 상기 관능기를 갖는 화합물은 알데히드, 에폭시 또는 아민기를 말단에 갖는 실록산인 방법.

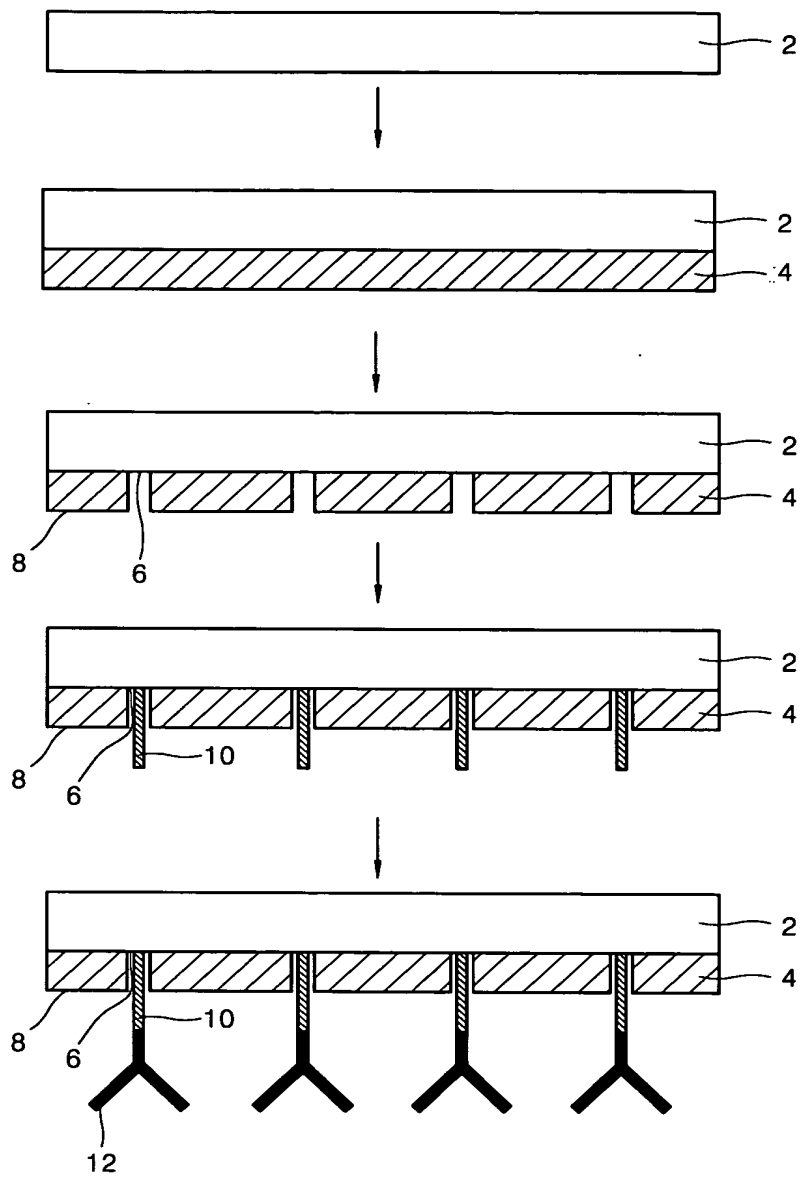
【도면】

【도 1】





【도 2】



【도 3】

